

INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

FELIPE AUGUSTO PAES DE GOIS

**PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DA LEUCINA E SEUS IMPACTOS
NA FISIOLOGIA HUMANA**

LONDRINA

2018



INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

FELIPE AUGUSTO PAES DE GÓIS

**PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DA LEUCINA E SEUS IMPACTOS
NA FISIOLOGIA HUMANA**

Trabalho de Conclusão de
Curso, modalidade Revisão
Bibliográfica, apresentado ao curso
Técnico em Biotecnologia Integrado
ao Ensino Médio do Instituto Federal
do Paraná.

LONDRINA

2018



FOLHA DE APROVAÇÃO

FELIPE AUGUSTO PAES DE GÓIS

PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DA LEUCINA E SEUS IMPACTOS NA FISILOGIA HUMANA.

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade Revisão Bibliográfica, apresentado ao Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio do Instituto Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Técnico em Biotecnologia.

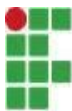
Orientador: _____

Prof(a). Orientador(a)

Prof(a). Componente de Banca 1

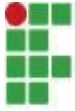
Prof(a). Componente de Banca 2

Londrina, ____ de _____ de 2018.



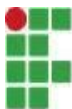
SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
2.3 JUSTIFICATIVA	14
3 METODOLOGIA	15
4 DESENVOLVIMENTO	16
4.1 Aminoácidos	16
4.2 Aminoácidos de Cadeia Ramificada	17
4.3 Leucina	19
4.4 Biotecnologia	24
4.5 Aspectos Biotecnológicos Relacionados à Produção da Leucina	25
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS	28



DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha família que independente do que acontecer, estará sempre ao meu lado.



AGRADECIMENTOS

A Deus por estar presente em minha vida, principalmente nos momentos mais complicados.

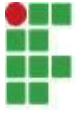
Ao meu orientador Prof. Omar Arafat Kdudsi Khalil, por toda paciência e atenção dados durante a produção deste trabalho, por todo o incentivo e por toda ajuda.

Aos meus pais, Daisy e Éder, que independente do que acontecesse sempre estavam me apoiando, me incentivando e me colocando no caminho certo para seguir.

Aos meus irmãos, João Pedro e Ana Clara que estão sempre ao meu lado, sempre me alegrando e me fazendo enxergar pontos positivos que muitas vezes acreditei não existir.

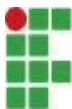
Aos meus amigos, João, Tiago, Jonatas, Fabrício, Gabriel, João Camilo, Baiano, Giovana, Ana, Oliveira, Kesa, Gustavo, Erick e João Gabriel, que nunca me abandonaram e sempre que precisei de algo, por mais difícil que fossem, se dispuseram a me ajudar.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, o meu sincero, muitíssimo Obrigado!



EPÍGRAFE

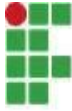
“Enquanto houver 1% de chance, tenha 99% de fé.”



RESUMO

Aminoácidos são biomoléculas que agem no corpo. São 20 os aminoácidos essenciais e indispensáveis ao ser humano. Dentro desse grupo dos essenciais, existe a leucina, que é um aminoácido essencial e não produzido pelo corpo humano. Por não ser produzida pelo ser humano, para que tenha leucina no corpo, é necessário consumi-la através de dietas, por alimentos a base de soja, carne bovina, suplemento, entre outros alimentos. Consumindo a leucina, esta, desempenha um papel importante na manutenção do fígado, tecido adiposo e tecidos musculares, neste último caso principalmente como estimulante da síntese protéica, assim, ganho de massa muscular. A leucina é comumente vista em dietas de idosos e/ou na dieta de praticantes de musculação, esportes de alto rigor físico, como maratonas aquáticas e a pé e praticantes de fisiculturismo. É um dos aminoácidos com mais pesquisa sobre por ser utilizado de diversas formas, como citado, podendo desempenhar funções totalmente diferentes, já que seu uso vai de um idoso à um atleta de alto rendimento.

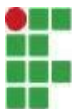
Palavras-chave: Aminoácidos; Proteínas; Essencial; Leucina; Ser humano; Dieta;



ABSTRACT

Amino acids are biomolecules that act on the body. There are 20 amino acids essential and indispensable to the human being. Within this group of essentials, leucine exists, which is an essential amino acid and not produced by the human body. Because it is not produced by the human being, so that it has leucine in the body, it is necessary to consume it through diets, food based on soy, beef, supplement, among other foods. Consuming leucine, it plays an important role in the maintenance of liver, adipose tissue and muscle tissues, in the latter case mainly as a stimulant of protein synthesis, thus gaining muscle mass. Leucine is commonly seen in older people's diets and / or in the diet of bodybuilders, high physical fitness sports such as water and walking marathons and bodybuilding practitioners. It is one of the amino acids with more research on being used in different ways, as cited, and can perform totally different functions, since its use goes from an elderly to a high-performance athlete.

Key-words: Amino acids; Proteins; Essential; Leucine; Human; Diet



LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

BN – Biblioteca Nacional

IFPR – Instituto Federal do Paraná

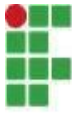
LDB – Lei de Diretrizes e Bases da Educação

AACR/BCAA- Aminoácidos de Cadeia Ramificada

pH - Potencial Hidrogeniônico

Et al. – E colaboradores

mTOR – Mammalian target of rapamicin

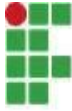


1 INTRODUÇÃO

O presente estudo pretende discutir a produção biotecnológica da Leucina e seus impactos na fisiologia humana. Para tanto é importante destacar que de acordo com Rogero e Tirapegui (2008) os aminoácidos são biomoléculas que possuem as funções orgânicas amina e ácido carboxílico sendo estes os fatores que levam à sua denominação. São biomoléculas fundamentais para os seres vivos, pois constituem as unidades básicas de peptídeos e proteínas que desempenham grande diversidade de funções biológicas, como catalisadores, estruturais, transportadores, hormonais, entre outros. Muitos aminoácidos atuam como precursores de hormônios, principalmente os que são produzidos e atuam no sistema nervoso central (SNC) e podem ser utilizados como fonte de energia na indisponibilidade ou em caso de baixas concentrações de carboidratos para as células.

De acordo com CHAMPE; HARVEY; FERRIER (2009, p.2) embora mais de 300 diferentes aminoácidos tenham sido descritos na natureza, apenas 20 deles são usualmente encontrados como constituintes de proteínas em mamíferos. Há diversas classificações de aminoácidos, mas a mais utilizada é a que se baseia na cadeia lateral de sua estrutura. Entre os aminoácidos de destaque devido às suas funções e aplicações citam-se os aminoácidos de cadeia ramificada (AACR), a qual fazem parte a leucina, a isoleucina e a valina.

Devido a importância dos AACR, esta pesquisa visou tratar sobre sua importância e obtenção biotecnológica, iniciando-se por apresentar conhecimentos gerais sobre os aminoácidos e focando-se os processos biotecnológicos relacionados a fermentação industrial para a sua obtenção.



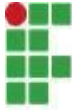
2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica sobre aminoácidos de cadeia ramificada com foco na leucina, sua importância fisiológica e obtenção biotecnológica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Apresentar aspectos gerais sobre os aminoácidos, como funções, estruturas e classificação;
- Aprofundar conhecimentos sobre aminoácidos de cadeia ramificada, focando a leucina, sua estrutura e importância fisiológica para o ser humano;
- Descrever a obtenção biotecnológica da leucina por meio de fermentação, apresentando aspectos relevantes relacionados a maior eficiência para a obtenção desta biomolécula.

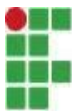


2.3 JUSTIFICATIVA

Aminoácidos são biomoléculas essenciais para o metabolismo dos seres vivos. Estas biomoléculas constituem as proteínas, enzimas e peptídeos, com ações catalíticas, hormonais, estruturais (entre outras), além de atuarem como precursores de várias biomoléculas importantes para a fisiologia humana.

A leucina é um aminoácido de cadeia ramificada essencial para a saúde. Participa da regulação do equilíbrio protéico do organismo, além de ser fonte de nitrogênio para a síntese de alanina e glutamina.

Como sua obtenção ocorre por meio de processos biotecnológicos, estando presente em muitos produtos industrializados, em especial nas áreas de saúde e de alimentos e, devido ao seu alto valor agregado e relação com a formação técnica em biotecnologia, justifica-se a construção de um trabalho de conclusão de curso (TCC) que apresenta dados relevantes sobre a leucina, focando-se seus aspectos fisiológicos e biotecnológicos.



3 METODOLOGIA

Este trabalho de conclusão de curso foi construído por meio de uma pesquisa de revisão bibliográfica desenvolvida por meio de pesquisas retrospectivas em bases de dados nacionais e internacionais, focando-se preferencialmente a obtenção de obras mais recentes.

Segundo Moresi (2003, p.35), “a revisão bibliográfica é uma fundamentação teórica que visa dar sustentação ao desenvolvimento da pesquisa”. Trata-se do processo de levantamento e análise do que já foi publicado sobre o tema de pesquisa escolhido.

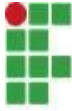
A opção por este tipo de estudo se deu pela adequação do mesmo aos objetivos desta pesquisa: o aprofundamento sobre conhecimentos específicos de uma biomolécula e sua importância para a formação técnica em biotecnologia.

Para atender aos objetivos deste trabalho, foram selecionados trabalhos científicos publicados em periódicos, teses, dissertações, preferencialmente num período de 10 anos, no entanto devido escassez de trabalhos publicados na área pode ocorrer referências mais antigas. Serão utilizados trabalhos tanto na língua portuguesa como na inglesa. As bases de dados utilizadas foram o SCIELO, Biblioteca Digital de Teses e Dissertações, *Sciencedirect* e o GOOGLE.

Os textos e materiais obtidos foram armazenados em computador pessoal e em e-mail particular e foram denominados de forma a facilitar sua análise e impedir repetições.

Os unitermos utilizados para a obtenção dos textos científicos foram: aminoácidos, aminoácidos de cadeia ramificada, BCAA leucina, biotecnologia, produção de leucina, fermentação e os unitermos mencionados na língua inglesa.

Os materiais obtidos foram classificados de acordo com as principais seções do trabalho de conclusão de curso: aminoácidos, aminoácidos de cadeia ramificada, leucina, biotecnologia e leucina e produção de leucina.



4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Aminoácidos

Os aminoácidos constituem as proteínas, que são as moléculas orgânicas mais abundantes em massa nas células, correspondendo a cerca de 50% ou mais de seu peso seco, ou seja peso ideal. Sua fórmula estrutural de acordo com Francisco Jr e Francisco (2006) apresenta um grupo amina (NH_2) e um grupo carboxila - COOH . São encontrados em todas as partes de todas as células, tendo funções fundamentais na lógica celular. Os aminoácidos, ainda de acordo com os mesmos autores possuem

[...] um átomo de carbono (denominado de carbono α ou carbono central) ligado a um átomo de hidrogênio, um grupo amina, um grupo carboxílico e uma cadeia lateral "R" característica para cada aminoácido. Essa cadeia lateral é o que difere os aminoácidos em sua estrutura, tamanho, cargas elétricas e solubilidade em água (FRANCISCO JUNIOR; FRANCISCO, 2006, p.12).

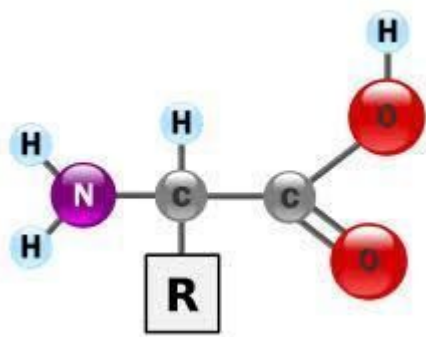
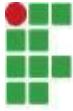


Figura 1: Estrutura geral dos aminoácidos com destaque para o carbono α e para a cadeia lateral "R" característica para cada aminoácido.)

Os aminoácidos, de acordo com Rogero e Tirapegui (2008), são utilizados na síntese de proteínas, as quais constituem músculos, tendões, cartilagens, tecido conjuntivo, unhas e cabelos, além de alguns hormônios. Assim, eles ligam-se entre



si para formar as proteínas, sendo portanto a "matéria prima" desses macronutrientes.

Segundo Francisco Junior, Francisco (2006) devido ao caráter ácido do grupo carboxila e do caráter básico do grupo amino, quando os aminoácidos são dissolvidos em água, sofrem neutralização interna e tornam-se íons dipolares, formando um composto químico eletricamente neutro.

Além de conferir propriedades físico-químicas diferentes a cada aminoácido, as cadeias laterais também são responsáveis por forças estabilizadoras, advindas de interações fracas (ligações de hidrogênio, hidrofóbicas, eletrostáticas etc.), que mantêm as estruturas conformacionais enoveladas das proteínas (FRANCISCO JUNIOR, FRANCISCO, 2006, p.12).

A ligação que une os aminoácidos é chamada de ligação peptídica, caracterizada pela reação do grupamento amina de um aminoácido com o grupamento carboxila de outro, com liberação de uma molécula de água.

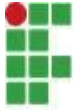
Aminoácidos são unidades básicas de composição de uma proteína em seres vivos, usados para sintetizar proteínas obtidas da dieta ou do turnover de proteínas, somam vinte aminoácidos padronizados no total, mas apenas nove aminoácidos são considerados essenciais. Uma vez que não podem ser sintetizados endogenamente, devem ser ingeridos por meio da dieta ou suplementos.(GOIS et. all, 2015, p.19).

Essa sintetização endógena refere-se às sínteses que partem do interior para o exterior do tecido, órgão ou organismos.(OLIVEIRA et. al, 2017)

4.2 Aminoácidos de Cadeia Ramificada

Há um subgrupo de aminoácidos denominados como aminoácidos de cadeia ramificada, AACR ou, em inglês, BCAA. Segundo Gonçalves (2013, p.212), os aminoácidos de cadeia ramificada (AACR/BCAA) são a leucina, isoleucina e a valina e são essenciais na dieta humana. Várias pesquisas têm sido realizadas com esses aminoácidos (principalmente a leucina) devido às suas propriedades fisiológicas.

De acordo com Gonçalves (2013), é necessário que se tenha energia suficiente para uma boa saúde e um bom desenvolvimento esportivo. Por meio de dieta saudável e controlada, consumindo aminoácidos na quantidade adequada, estes agem no organismo auxiliando na prática de esportes fornecendo mais



energia, levando assim a atraso na fadiga, o que acarreta em maior qualidade no desempenho do atleta, uma vez que, quanto mais ele se esforce sem cansar, melhor será seu desempenho em determinado esporte. Atualmente, esportistas de variadas modalidades estão incluindo em suas dietas uma maior quantidade de aminoácidos por meio de suplementos alimentares. Assim, com o ganho protéico ocorrido pelo consumo dos suplementos, há maior garantia da hipertrofia muscular, ou seja, o alongamento dos músculos, algo essencial para as pessoas que frequentam academia e atuam com a prática de musculação por exemplo.

Num ser humano adulto saudável, nove aminoácidos são considerados essenciais para um bom funcionamento do organismo. Estes, devem ser consumidos por meio da dieta, pois não são sintetizados endogenamente. Segundo Rogero e Tirapegui, (2008), destes nove aminoácidos, três são os BCAA: a valina, a isoleucina e a leucina, representam cerca de 35% de aminoácidos essenciais em proteínas musculares.

Diferentemente de outros aminoácidos, que são oxidados primariamente no tecido hepático, o sistema enzimático mais ativo para a oxidação dos BCAA está localizado no músculo esquelético. Apesar do fígado não poder catabolizar diretamente os BCAA, o mesmo apresenta um sistema muito ativo para a degradação dos cetoácidos de cadeia ramificada oriundos dos correspondentes BCAA. Essa distribuição tecidual específica do catabolismo dos BCAA decorre da distribuição única das duas primeiras enzimas envolvidas no catabolismo dos BCAA. (ROGERO; TIRAPEGUI, 2008, p.564)

Como exemplos para cetoácidos de cadeia ramificada pode-se citar glutamina, glutamato e α -cetogluturato.

Cada fase da vida do ser humano exige um nível adequado de aminoácidos ingeridos. De acordo com Maughan e Burke (2004, apud TERADA et al., 2009) a Figura 2 demonstra a quantidade de proteínas necessárias para cada fase da vida de um ser humano, desde a infância à vida adulta e idosa, além de demonstrar as necessidades de atletas também.



População	Ingestão de proteínas recomendadas (g/kg/dia)
Populações sedentárias	
Crianças	1,0
Adolescentes	1,0 a 1,5
Adultos	0,8 a 1,0
Gravidas	6 a 10
Lactantes	12 a 16
Atletas	
Atletas recreacionais (4 a 5 vezes/semana por 30 minutos)	0,8 a 1,0 1,2 a 1,6
Treinamento de atletas de resistência aeróbia	1,2
Intensidade moderada	1,6
Volume extremo	1,2 a 1,7
Treinamento de atletas de força	1,5 a 1,7
Novatos	1,0 a 1,2
Regulares	1,5
Atletas adolescentes durante pico de crescimento	

Figura 2: Necessidades orgânicas de aminoácidos de acordo com a fase da vida ou para atletas (MAUGHAN;BURKE, 2004 apud TERADA et al., 2009).

4.3 Leucina

Leucina, isoleucina e valina, aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) – são componentes essenciais na dieta humana, pois enzimas para a síntese *de novo* de aminoácidos de cadeia ramificada não estão presentes em nas células (MERO,1999).

A leucina é um aminoácido classificado como apolar devido a sua cadeia lateral, composta apenas por átomos de carbono e hidrogênio (Figura 3). Também é classificada como aminoácido de cadeia ramificada.

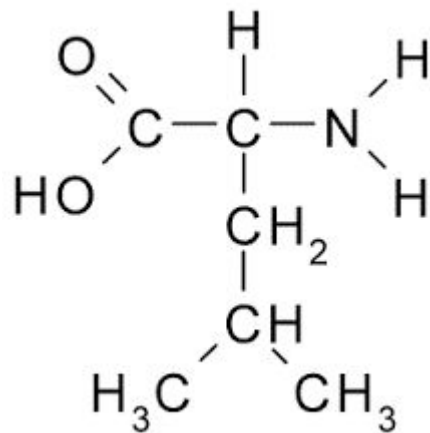
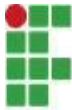


Figura 3: Fórmula estrutural da leucina. Fonte: Princípios de Bioquímica de Lehninger. Ed. 2014.

A Figura 4 demonstra o metabolismo aeróbico da leucina relacionado a obtenção de energia:

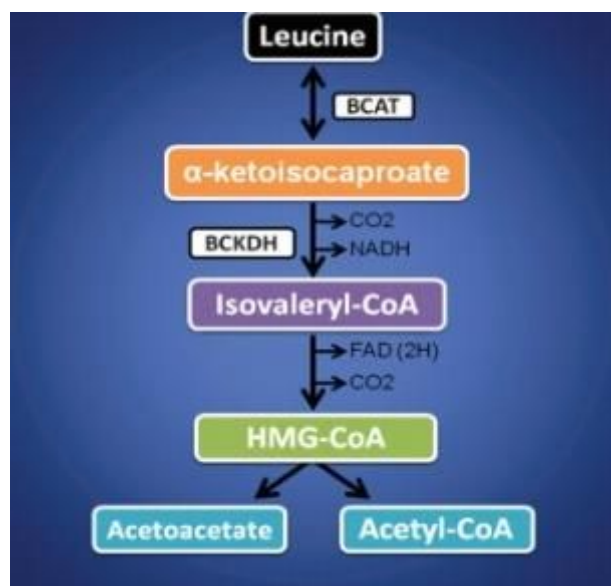
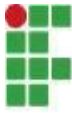


Figura 4: Metabolismo da leucina; Fonte: Smith, Marks e Liberman (2005).

A leucina, $C_6H_{13}NO_2$, tem um papel importante na fisiologia do fígado, tecido adiposo e tecidos musculares, neste último caso principalmente como estimulante da síntese protéica, ou seja, o ganho de massa muscular, por isso o aumento do uso da leucina por praticantes de musculação e fisiculturismo. Além disso, de acordo com Dantas (2017), a leucina apresenta também um grande potencial terapêutico relacionado com a manutenção da glicemia e controle de ganho da massa corporal, devido a sua ação na sensação de saciedade e no aumento do gasto energético.



Assim sendo, poder ser utilizada como um meio auxiliar no tratamento de doenças metabólicas. Algumas pesquisas recentes confirmaram seu efeito anabólico, ou seja, sua atividade em produzir novas biomoléculas necessárias ao crescimento de células musculares, sendo sua função principal favorecer o ganho de massa magra. Dessa maneira, ficou conhecida como o aminoácido mais rápido relacionado à síntese proteica (RODACKI, 2012).

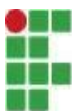
Outro ponto importante é o fato de converter rapidamente a glicose sanguínea em energia no organismo, ideal para melhorar o desempenho nos treinos e auxiliar na manutenção de musculatura existente (DANTAS, 2017).

O motivo pelo qual a leucina é tão importante para o ganho de massa muscular, é o fato de que ela é capaz de ativar rapidamente a mTOR, proteína necessária no processo de síntese proteica. Isso acontece, principalmente, por meio da utilização de três proteínas regulatórias que são essenciais neste processo: a proteína quinase ribossomal, a proteína ligante do fator de iniciação eucariótico e o fator de iniciação eucariótico. Através destas descobertas, ficou claro que a leucina tem uma função secundária importantíssima, além do papel de aminoácido essencial (DANTAS, 2017).

A *American Journal of Clinical Nutrition* (2016) realizou um estudo que apontou que uma maior quantidade de leucina em bebidas desportivas leva a aumento no desenvolvimento muscular em praticantes de qualquer atividade física.

Segundo DANTAS (2017), a leucina pode auxiliar o organismo de diferentes maneiras, auxiliando na execução de exercícios de força e resistência. Em ambas atividades, pode ocorrer desgaste muscular muito intenso, assim, o consumo da leucina após a prática de exercícios físico traz resultados positivos reduzindo o desgaste dos músculos, atrasando o esgotamento das reservas de glicogênio e favorecendo a recuperação muscular.

A leucina pode auxiliar na perda de lipídeos corporais. Além disso, é capaz de contribuir para o bom desempenho esportivo. Por meio de estudos realizados nos últimos anos, ficou claro que o consumo de BCAA's antes ou durante a prática de exercícios de resistência é capaz de prevenir e reduzir a excessiva degradação muscular, melhorando também o desempenho físico e mental.

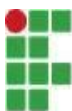


Outro ponto importante sobre a ação da leucina é relacionado a fadiga. A sensação de fadiga pode advir e estar relacionada ao neurotransmissor serotonina. A suplementação de leucina reduz o acúmulo de serotonina, diminuindo assim o cansaço. Essa redução não ocorre apenas durante a prática esportiva, mas também antes e depois desta. Dessa forma, segundo Dantas (2017) o desempenho se mantém em boas condições em todos os momentos da atividade.

Além de todas essas funções abordadas, a leucina também estimula a produção de glutamina, que é um aminoácido fundamental para o auxílio no ganho de massa muscular e imunidade intestinal e, quando aumentam a sua disponibilidade, minimizam-se as chances de fadiga. Além do mais, a glutamina pode contribuir na diminuição do estresse oxidativo por meio da estimulação da síntese de glutathione, favorecendo assim a integridade das células, além de auxiliar na melhora do sistema imunológico. O consumo dos BCAA's pode levar a benefício importante principalmente para praticantes de atividades físicas de resistência de média a longa duração.

A leucina apresenta grande diversidade de pontos positivos relacionados à fisiologia e à saúde, como na redução nos níveis de colesterol, no controle dos níveis de açúcar no sangue e no emagrecimento.

Seu consumo pode ocorrer em quantidades desejadas sem a necessidade de suplementação, desde que a dieta possua quantidades adequadas de proteínas. Entre os alimentos ricos em proteínas contendo leucina citam-se a soja, que é um alimento nutricionalmente completo, pois oferece todos os aminoácidos que o organismo não pode produzir em quantidades diárias suficientes de leucina. Também, carnes de diferentes fontes como a bovina, fonte muito importante de proteínas de alta qualidade e que além de possuir os BCAA, possui inúmeros nutrientes importantes no processo de síntese muscular. Um bife de 100g contém em média, 0,7g de leucina segundo indústrias alimentícias produtoras de tal alimento. Os peixes também possuem alta concentração de proteínas. Exemplifica-se o atum, que é uma das fontes mais ricas em leucina. Outras fontes nutritivas incluem o ovo cozido, leite e produtos derivados do leite (como os queijos), sementes de abóbora, amêndoas e castanhas (possuem alta dose de leucina na sua composição).



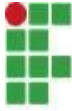
Além de todos estes alimentos, leucina pode ser consumida por meio de suplementação. A suplementação é a forma indicada para os indivíduos que não ingerem a quantidade de BCAA que necessitam, podendo desta maneira obtê-los por meio de suplementos. Há no comércio várias opções para compra, em pó, cápsulas, tabletes, líquido entre outras formas. A suplementação é mais indicada para atletas que necessitam de maior massa muscular e para idosos.

A partir dos 40 anos, os seres humanos começam a perder de 0,5 a 2% de sua massa muscular por ano, sendo este processo denominado de sarcopenia. A queda de massa muscular nos idosos pode acarretar em perda das fibras musculares e aumento do acúmulo de gordura entre as fibras, gerando assim um declínio na saúde.

Segundo Gonçalves (2013), no qual, buscou o efeito dos suplementos estudados na pesquisa, a figura a seguir representa o que foi coletado.

Suplemento	Efeito	Horário de ingestão	Dose diária	Efeito	Estratégia
Carboidratos	Melhora do rendimento físico	Antes e durante a sessão de exercício	6-18%	Agudo	Ingerir com proteína
Aminoácidos de Cadeia Ramificada (BCAA)	Melhora do desempenho	Antes, durante e após a sessão de exercício.	1-10g	Agudo e Crônico	-
Arginina	Melhora do desempenho, diminuição da pressão arterial e aumento dos níveis plasmáticos de NO	Doses diárias	3-6 g	Agudo e Crônico	-
Creatina	↑ massa muscular ↑ potência, ↑ força Diminuição de marcadores inflamatórios	Distribuição de doses ao longo do dia	3 g	Crônico	Ingerir com carboidrato
β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB)	↑ massa magra, ↑ força, ↓ fadiga, marcadores de inflamação e lesão e diminuição da proteólise	Antes do exercício	3 g	Crônico	-
Leucina	↑ massa magra ↑ glicogênio muscular, síntese proteica.	Doses diárias	1,5-4%	Crônico	-
Whey Protein	↑ massa magra, ↑ força, ↑ síntese proteica e ↓ de fadiga	Após o exercício	20-40g	Crônico	Ingerir isoladamente
Triglicerídeos de cadeia média (TCM)	↓ de fadiga ↓ gordura corporal	Antes do exercício	6-30g	Crônico	-

Figura 5: Resumo dos efeitos dos suplementos. Fonte: Gonçalves (2013).



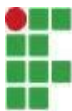
A imagem acima demonstra qual suplemento foi estudado, qual horário de seu consumo, o efeito esperado, a dose diária de consumo, se possui efeito crônico ou agudo e qual estratégia foi utilizado para o consumo.

4.4 Biotecnologia

A biotecnologia é um termo que se refere a qualquer aplicação tecnológica que utilize sistemas biológicos, organismos vivos ou seus derivados para fabricar ou modificar produtos ou processos para utilização específica (ONU, Convenção de Biodiversidade 1992, Art. 2).

A biotecnologia moderna engloba áreas de aplicações biológicas em saúde e biomedicina, na agricultura e na produção de insumos industriais, com uma forte orientação multidisciplinar e experimental. Dentre as disciplinas que constituem as bases da biotecnologia destacam-se aquelas das áreas biológicas (principalmente microbiologia e biologia molecular), das áreas químicas (química orgânica, química analítica e bioquímica) e das áreas de engenharia (principalmente engenharia bioquímica ou de bioprocessos).

A interdisciplinaridade da biotecnologia moderna pode ser exemplificada por algumas de suas aplicações industriais. Na indústria farmacêutica e área médica, suas ferramentas podem levar ao desenvolvimento de novos fármacos, farmacoterapias, produção e aperfeiçoamento de antibióticos, produção de proteínas recombinantes para fins terapêuticos, vacinas, desenvolvimento de biomateriais reparativos e bio indutores, produção de órgãos e tecidos biológicos *ex-vivo*. estabelecimento de terapias gênicas e outras estratégias para o tratamento de doenças animais e vegetais. Nos laboratórios de análises, pode levar ao desenvolvimento de testes diagnósticos clínicos, alimentícios, agrícolas e ambientais. Na agricultura, cita-se o desenvolvimento de novas variedades de cultivos/organismos transgênicos. Na indústria alimentícia, diversas aplicações na produção e no controle de qualidade de produtos alimentícios e bebidas. No meio ambiente, no tratamento de esgoto e efluentes industriais, biorremediação, biocombustíveis. Na indústria química, na produção de insumos químicos, enzimas e



outras proteínas recombinantes. Na área de instrumentação, no desenvolvimento de biorreatores, *softwares* e consumíveis da área biotecnológica.

Limitando-se sua aplicação na obtenção de biomoléculas, exemplificam-se os aminoácidos, que são produzidos comercialmente por meio de fermentação em biorreatores, tendo os microrganismos como elementos-chave para o processo. A seguir, segue descrição de fatores que influenciam na obtenção e produção laboratorial ou indústria de L-leucina por meio de ferramentas biotecnológicas.

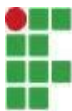
4.5 Aspectos Biotecnológicos Relacionados à Produção da Leucina

Os aminoácidos essenciais são sintetizados nos vegetais por meio do aproveitamento do nitrogênio na forma de NH_4^+ , nitritos e nitratos presentes no solo e que são produzidos por bactérias capazes de fixar o N_2 atmosférico convertendo-os nos produtos nitrogenados absorvidos pelos vegetais. A decomposição bacteriana de animais mortos gera estes compostos de nitrogênio diretamente da degradação de aminoácidos, independente da captação do N_2 atmosférico. Os aminoácidos não-essenciais são sintetizados nos animais a partir de moléculas precursoras que fazem parte do Ciclo de Krebs e do grupamento amino proveniente da degradação de aminoácidos. Como vários aminoácidos fornecem intermediários do Ciclo de Krebs, havendo uma interdependência entre os aminoácidos no seu processo de degradação e síntese (NELSON, 2002).

Como a leucina não é produzida pelo organismo é necessário obtê-la por meio da dieta ou de suplementação, sendo que para este último sua obtenção ocorre por meio de processo biotecnológico utilizando-se microrganismos produtores por meio de fermentação.

Há relatos de sua obtenção comercial há mais de 45 anos por meio do uso de bactérias do gênero *Corynebacterium* em meio de cultura contendo fonte de carbono, de nitrogênio, material inorgânico, outros nutrientes e um promotor de isoleucina - metionina, fenilalanina ou valina (KYOWA HAKKO KOGYO CO LTD, 1972).

A L-Leucina é um dos aminoácidos essenciais e tem sido usada como aditivo alimentar. Era costume hidrolisar proteínas naturais e isolar L-leucina da mistura resultante de aminoácidos por meio de fracionamento. Entretanto, este processo é



de baixo rendimento, pouco eficiente mais oneroso. Verificou-se que algumas bactérias pertencentes aos gêneros *Brevibacterium* e *Corynebacterium* e resistentes a antagonista de leucina produzem uma grande quantidade deste aminoácido quando cultivadas num meio nutriente. Os mutantes produtores de L-leucina podem ser isolados a partir de fontes naturais ou ser obtidos por procedimentos convencionais de indução de mutantes como radiação com raios X, irradiação de luz ultravioleta ou tratamento com nitrosoguanidinas, sulfato de dietilo ou nitrito (AJINOMOTO CO., INC, 1975).

Segundo Kyowa (1972), a L-leucina pode ser obtida utilizando uma estirpe mutante de *Micrococcus glutamicus*, destacando-se, porém, bactérias do gênero *Corynebacterium*. Misturas dos promotores podem também ser utilizados para a obtenção do aminoácido. O meio de cultura que pode ser utilizado para a obtenção da L-Leucina, inclui todo e qualquer meio sintético ou natural contendo quantidade adequada de fonte de carbono, nitrogênio, substâncias inorgânicas e outros nutrientes. Como fonte de carbono no meio de cultura, utiliza-se preferencialmente glicose. Deve-se empregar também aminoácidos que cumprem com os requisitos específicos das estirpes utilizadas, exemplificando-se principalmente a isoleucina, a metionina, a fenilalanina, a valina e/ou suas misturas. Como fonte de nitrogênio, podem ser utilizados compostos orgânicos ou inorgânicos, como a amônia, ureia, sulfato de amônio, cloreto de amônio, acetato de amônio, sais de amônio de vários outros ácidos orgânicos, etc. Como substâncias inorgânicas que podem ser incluídas no meio de cultura, podem ser mencionados vários sais de ferro, manganês, magnésio, cobalto, zinco, níquel, cromo, etc., bem como vários compostos de ácido fosfórico.

Kyowa (1972) aponta que a produção de L-Leucina é realizada em condições aeróbicas. A temperatura de cultivo varia entre 25°C a 40°C, mas preferencialmente entre 27 a 37°C. O pH do meio varia consideravelmente, mas é vantajoso ajustá-lo à faixa de 5,5 a 8,5 utilizando um agente neutralizante adequado durante o cultivo. Após a cultura por 3-6 dias, a L-leucina é acumulada, mas a L-tirosina pode ser produzida como um subproduto sob certas condições de cultura. Posteriormente, as células microbianas são removidas do caldo por filtração ou centrifugação. O filtrado é tratado por adequado, igualmente ao centrifugado. A L-leucina retida é



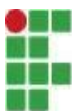
eluída, ou seja, a mistura é separada de partículas, concentrada e arrefecida de maneira convencional para produzir cristais brutos de L-leucina.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A biotecnologia é uma área promissora para o desenvolvimento dos países que investem em pesquisas voltadas a obtenção de processos ou produtos inovadores, aliando tecnologias e ferramentas de química e engenharia a sistemas vivos. Entre os bioprodutos oriundos desta área, citam-se os aminoácidos, como a L-leucina, um aminoácido ramificado com aplicações voltadas principalmente na área de saúde.

Para a sua obtenção, são necessários o uso de tecnologias de fermentação com o uso de biorreatores e o desenvolvimento de linhagens microbianas e processos que levem ao rendimento cada vez maior e a menor custos. O técnico em biotecnologia pode atuar auxiliando no planejamento, desenvolvimento de pesquisas e na produção comercial deste aminoácido, mas para isso é necessário estar qualificado e compreender as variáveis envolvidas na fermentação.

Espera-se que o país possa criar ou desenvolver empresas que atuem na produção de L-leucina ou outros aminoácidos ou biomoléculas úteis e com alto retorno financeiro, o que gerará maior desenvolvimento industrial e nacional por meio da comercialização interna e externa deste bioproduto.



REFERÊNCIAS

AJINOMOTO CO., INC (Tóquio). Patentes dos Eua. Shinji Okumura; Fumihiro Yoshinago; Koji Kubota. **Produção fermentativa de L-leucina**. EUA nº 3865690, 20 dez. 1972, 02 nov. 1975. 1975.

Bajwa, M.A., T. Zahoor, T.M. Butt, M. Atiq and S.T. Sahi, 2010. **Microbial production of L-isooleucine from different substrates using locally isolated bacteria**. Int. J. Agric. Biol., 12: 668–672.

BORÉM, A.; SANTOS, F. R. **Entendendo a biotecnologia**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2008.

CAMPBELL, M.K.; FARREL S.O. **Bioquímica. Versão COMBO**. São Paulo: Cengage Learning, 2007.

CARVALHEIRA, J. B. C.; Zecchin, H. G.; Saad, M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. São Paulo. Vol. 46. Num. 4. 2002.

DANTAS, Gabriela. Leucina: tudo que você precisa saber sobre o aminoácido essencial para o ganho de massa. **Geração Fit**. Ago, 2017.

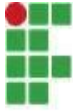
DEVLIN, T.M. **Manual de Bioquímica com correlações clínicas**. 2 ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1999.

FRANCISCO JUNIOR, Wilmo Ernesto; FRANCISCO, Welington. Proteínas: hidrólise, precipitação e um tema para o ensino da química. **Química Nova na Escola**: CONCEITOS CIENTÍFICOS EM DESTAQUE, Araraquara, v. 24, p.12-16, nov. 2006.

GOIS, Helen Deyse S. Cândido et al. **Os efeitos da suplementação de ACR sobre a fadiga no exercício de Endurance**. Revista Odontológica de Araçatuba, Araçatuba, Sp, v. 36, n. 2, p.19-23, dez. 2015

KYOWA HAKKO KOGYO CO LTD (Us). United States Patents. Sumio Kurihara; Kazumi Araki; Hiroyuki Ueda. **Preparation of l-leucine by fermentation**. EUA nº 3668073A, 01 nov. 1968, 06 jun. 1972. US Grant, 1972.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia**. Rio de Janeiro: Instituto de Tecnologia ORT, 2012.



MATA, Guilherme Rossi da; NAVARRO, Francisco. O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE LEUCINA NA SÍNTESE PROTÉICA MUSCULAR. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**: Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício, São Paulo, v. 3, n. 17, p.367-378, set. 2009. Mensal.

Mero, A. **Leucine Supplementation and Intensive Training**. Sports Med. Vol. 27. Num. 6. 1999. p. 347-358.

MORESI, E. Metodologia de Pesquisa. Brasília: UCB, 2003.

NELSON, D.L.; COX, M.M. Lehninger: **Princípios de bioquímica**. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

NEWELL-MCGLOUGHLIN, M.; EDWARD, R. **The evolution of biotechnology: from natufians to nanotechnology**. Dordrecht: Springer, 2006.

OLIVEIRA, Leonardo Lisboa Gomes de et al. **Recursos Ergogênicos nutricionais proteicos: Mecanismo de ação**. Revista Saúde em Foco, São Paulo, p.507-525, 2017.

RODACKI, C.L. et al. Fish-oil supplementation enhances the effects of strength training in elderly women. Am J Clin Nutr. 95, p. 428-436, 2012.

ROGERO, Marcelo Macedo; TIRAPÉGUI, Julio. Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo , v. 44, n. 4, Dec. 2008 .

SCHENBERG, A. C. G. **Biotecnologia e desenvolvimento sustentável**. Estudos Avançados, v. 24, n. 70, p. 7-17, 2010.

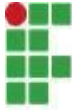
SILVEIRA, M. F. J.; DAL POZ, M. E.; ASSAD, A. L. **Biotecnologia e recursos genéticos: desafios e oportunidades para o Brasil**. Campinas: Instituto de Economia/FINEP, 2004.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996.

VIANNA, Daiana et al. **Protein synthesis regulation by leucine**. Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences, São Paulo, v. 46, n. 1, p.30-36, mar. 2011.

CHAMPE, Pamela C.; HARVEY, Richard A.; FERRIER, Denise R. Bioquímica ilustrada. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

VIANNA, D.; Teodoro, G. F. R.; Torres-Leal, F. L.; Tirapegui, J. Protein Synthesis Regulation by Leucine. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. São Paulo. Vol. 46. Num. 1. 2010. p. 25-29.



Ministério da Educação

VOET, D.; VOET, J.G.; PRATT, C.W. **Fundamentos de bioquímica**. Porto Alegre: ArtMed, 2000.

YAO, K.; DUAN, Y.; LI, F.; TAN, B.; HOU, Y.; WU, G.; YIN, Y. Leucine in Obesity: Therapeutic Prospects. **Trends Pharmacol Sci**. Aug; v. 37, n. 8, p. 714-727, 2016

ZANCHI, Nelo Eidy et al. SUPLEMENTAÇÃO DE LEUCINA: NOVA ESTRATÉGIA ANTIATRÓFICA. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, São Paulo, v. 8, n. 1, p.113-121, ago. 2009.